Nº 14. **E. Hadorn** und **P. S. Chen,** Zürich. — Die Feldorganisation der Spermatheken-Anlage bei *Drosophila melanogaster.* (Mit 3 Textabbildungen und 2 Tabellen.)

(Zoologisch-vergl. anatomisches Institut der Universität Zürich.)

*Herrn Prof. Dr. J. Seiler zum 70. Geburtstage gewidmet.*

## 1. Problemstellung und Methodik

Am weiblichen Geschlechtsapparat entstehen bei *Drosophila melanogaster* zwei Spermatheken. Es sind dies pilzhutförmige, dunkel pigmentierte Kapseln. Mit dem Ovidukt stehen sie durch je einen selbständigen Gang in Verbindung, der zur Aufnahme und Abgabe der Spermien dient.

Die Spermatheken entwickeln sich nach Graber (1949) beim Wildtyp aus einer zunächst unpaaren Knospe, die aus der medianen Region der Genital-Imaginalscheibe nach dorsal und vorn auswächst. Über dieser primären Anlage, welche die eine Kapsel des Spermathekenpaares liefert, entsteht eine zweite, sekundäre Anlage, aus der die zweite Kapsel hervorgeht. Durch eine Drehung des sekundären Primordiums um das primäre kommen die beiden Gänge und Kapseln schliesslich nebeneinander in die Horizontalebene zu liegen. Hadorn und Gloor (1946) haben durch Aufteilung der larvalen Genitalscheibe das Areal bestimmt, das zur Differenzierung der Spermatheken befähigt ist. Es liegt zentral am Vorderrand der Scheibe; diese Stelle stimmt mit dem Bezirk überein, der nach der Verpuppung als Spermathekenknospe auswächst.

Hadorn, Bertani und Gallera (1949) konnten für die männliche Genitalscheibe von *Drosophila melanogaster* zeigen, dass die einzelnen Elemente des Geschlechtsapparates aus mosaikartig verteilten Feldern hervorgehen. Teilstücke erwiesen sich als vollkommen regulationsfähig. Die vorliegende Arbeit befasst sich mit den Regulationsleistungen des Spermathekenareals; im besondern wird untersucht, ob und in welchem Ausmass diesem Anlagemate-

* Ausgeführt und herausgegeben mit Unterstützung der Georges und Antoine Claraz-Schenkung.

rial auch jene Feldeigenschaften zukommen, wie sie für die Areale der männlichen Genitalscheibe charakteristisch sind.

Zur Prüfung der Entwicklungsleistungen der Genitalprimordien wurden die larvalen Imaginalscheiben freipräpariert und dann entweder *in toto* in die Körperhöhle von Larven des 3. Stadiums injiziert (Kontrollversuche), oder die Scheiben wurden in verschiedenen Richtungen zerschnitten und darauf die Teilstücke implantiert. Die metamorphosierten Strukturen der Implantate konnten später aus dem Abdomen der Wirtsfliegen herauspräpariert und an Totalpräparaten mikroskopisch untersucht werden. Alle durchgeführten Versuchsanordnungen sind in der Abb. 1 schematisch angegeben. Neben den Teilstücken verschiedener Grösse und Orientierung wurden als Kontrollen auch ganze Genitalscheiben (1/1) implantiert.

## 2. Ergebnisse

### a) *Leistungen von Teilstücken der Imaginalscheibe*

In der Tab. 1 ist für sämtliche Versuchsanordnungen (Abb. 1) angegeben, wie viele Spermatheken die einzelnen Implantate geliefert haben.

Tabelle 1.

*Zahl (n) und Frequenz (%) der Fälle mit 0, 1, 2, 3 oder 4 Spermatheken für die Versuchsanordnung I—VI (vergl. Abb. 1).*

| Experiment | Zahl der Spermatheken | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | N | M |
| | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | | |
| K 1/1 | 2 | 1,3 | 16 | 10,5 | 126 | 84 | 2 | 1,3 | 4 | 2,7 | 150 | 1,93 |
| I ½ | 11 | 3,4 | 79 | 24,4 | 222 | 68,5 | 11 | 3,4 | 1 | 0,3 | 324 | 1,73 |
| II M | — | — | — | — | 21 | 87,5 | 3 | 12,5 | — | — | 24 | 2,16 |
| II A | 28 | 96,6 | 1 | 3,4 | — | — | — | — | — | — | 29 | 0,03 |
| III V | — | — | 2 | 7,4 | 25 | 92,6 | — | — | — | — | 27 | 1,93 |
| III H | 22 | 95,6 | 1 | 4,4 | — | — | — | — | — | — | 23 | 0,04 |
| IV 5/8 | — | — | — | — | 12 | 100 | — | — | — | — | 12 | 2,00 |
| IV 3/8 | 5 | 41,7 | 7 | 58,3 | — | — | — | — | — | — | 12 | 0,58 |
| V 3/4 | — | — | — | — | 27 | 96,4 | 1 | 3,6 | — | — | 28 | 2,03 |
| V 1/4 | 16 | 88,9 | 1 | 5,6 | 1 | 5,6 | — | — | — | — | 18 | 0,17 |
| VI 7/8 | — | — | — | — | 16 | 94,2 | 1 | 5,9 | — | — | 17 | 2,06 |
| VI 1/8 | 12 | 100 | — | — | — | — | — | — | — | — | 12 | 0,00 |

K = Kontrollimplantate, N = Gesamtzahl,
M = Mittelwert der Spermathekenzahl.

Bei den Kontrollen (Tab. 1: K 1/1), wo ganze Genitalscheiben implantiert wurden, entstehen erwartungsgemäss meist 2 Spermatheken (84%). Die Fälle mit nur einer oder keiner Spermatheke müssen als Minderleistungen gedeutet werden, die auf irgendwelche, nicht näher feststellbare Schädigung des Transplantates zurückzuführen sind. Dort, wo 3 oder 4 Spermatheken gebildet wurden, liegt offenbar eine Regulationsleistung vor, die durch teilweises Zerreissen des Spermathekenfeldes beim Einsaugen

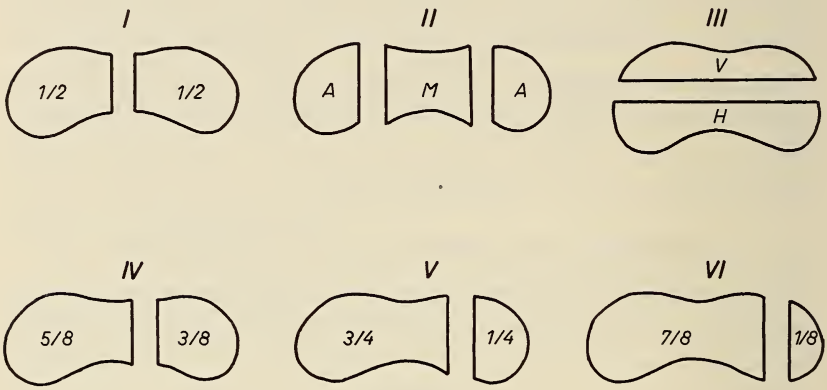



Abb. 1.
Versuchsanordnung zur Aufteilung der weiblichen Genital-Imaginalscheibe von *Drosophila melanogaster*.

der Scheibe in die enge Transplantationspipette ausgelöst werden kann.

Von 324 Medianhälften (Abb. 1: I) differenzierten mehr als 2/3 aller Transplantate (68,5%) je 2 Spermatheken (Tab. 1: I ½). Eine in der Sagittalebene halbierte Genitalscheibe ist somit zur vollkommenen Regulation des Spermathekenpaares befähigt. In der Abb. 2 links ist ein typisches Implantatspaar dargestellt. Die beiden Halbscheiben wurden zusammen in eine Wirtslarve implantiert. Jede Hälfte hat zwei Spermathekenkapseln von normaler Grösse und Form differenziert. Als einzige Abweichung vom typischen Verhalten zeigt die linke Hälfte einen unpaaren distalen Teil des Spermathekenganges. Solch geringfügige Beeinträchtigungen in der Regulationsleistung sind aber relativ selten; meist zeigen die für Spermathekenbildung

regulierenden Transplantate das normale Entwicklungsmuster, wie es in der rechten Hälfte verwirklicht ist.

In rund einem Viertel der Fälle (24,4%) trat keine Regulation ein. Hier entstand pro Sagittalhälfte nur eine Spermatheke; die Entwicklungsleistung erfolgte somit mosaikartig gemäss der prospektiven Bedeutung des Anlagematerials. Wir werden später erläutern, in welchem Ausmasse das Alter von Wirt und Implantat das Regulationsvermögen beeinflusst.

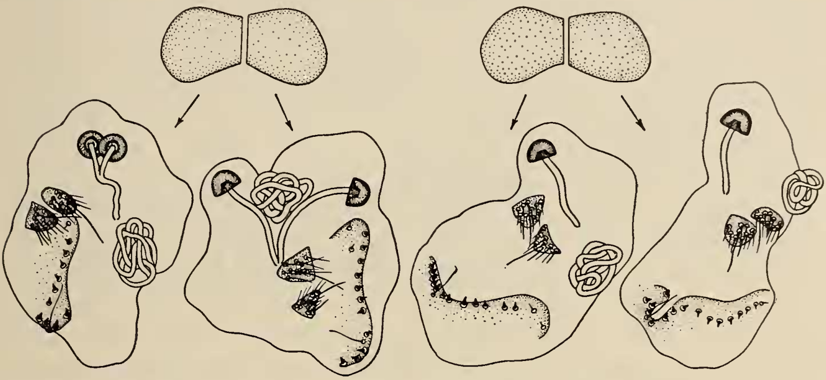


Abb. 2.

Differenzierung von Sagittalhälften der Genitalscheibe. Links: Regulationsleistung des Spermathekenfeldes in jüngeren Wirten. Rechts: Mosaikentwicklung in älteren Wirten. Ausser den Spermatheken sind auch die Anal- und Vaginalplatten, sowie das unpaare Receptaculum seminis eingezeichnet.

Bei paramedianer Dreiteilung (Abb. 1: II) entstehen ein Mittelstück (M) und zwei Aussenstücke (A). Die Mittelstücke (Abb. 1: II M) lieferten ausnahmsweise 2 oder 3 Spermatheken (Tab. 1: II M). Die Aussenstücke (Abb. 1: II A) dagegen bilden keine Spermatheken (Tab. 1: II A). Der eine Fall, wo ein Aussenstück eine Spermatheke differenzierte, wird wohl auf ungenauer Schnittführung beruhen. Aus diesen Ergebnissen schliessen wir, dass das Spermathekenfeld zentral liegt und nicht über den mittleren Drittel der Scheibe hinausreicht (Abb. 3).

Wird die Genitalscheibe senkrecht zur Körperachse quer geteilt, so entsteht ein Vorder- und ein Hinterstück (Abb. 1: III). Die Vorderstücke (Abb. 1: III V) liefern fast ausnahmslos

(92,6%) je ein normales Spermathekenpaar (Tab. 1: III V). Die abgetrennten Hinterstücke (Abb. 1: III H) sind bei exakter Schnittführung nicht befähigt, Spermatheken zu bilden. Nach diesen Aufteilungsexperimenten muss das Spermathekenfeld am Vorderrand der Scheibe liegen und nicht in die hintere Querhälfte hineinreichen. Diese Lage ergab sich bereits aus den Experimenten von Hadorn u. Gloor (1946).

Die weiteren 3 Versuchsanordnungen (Abb. 1: IV-VI) bestätigen einerseits die Befunde der bisher besprochenen Implantatsserien, geben aber andererseits noch weiteren Aufschluss über die Feldeigenschaften der Spermathekenanlagen. Durch paramediane Schnittführung wurde die Genitalscheibe in einen 5/8-Teil und einen 3/8-Teil fragmentiert (Abb. 1: IV). In den 5/8-Teilen entstehen regelmässig 2 Spermatheken (Tab. 1: IV 5/8). Für die 3/8-Teile ist die Fähigkeit zur Spermathekenbildung stark eingeschränkt. Rund die Hälfte der Transplantate liefern keine Spermatheken. Bei den übrigen entsteht nur eine Spermatheke (Tab. 1: IV 3/8). Offenbar trifft der Schnitt noch die Randzone des Feldes. Das kleine abgetrennte Feldstück verhindert nicht, dass der Hauptteil, regulierend, stets zwei normale Spermatheken bildet. Im 3/8-Teil genügt das Anlagematerial häufig noch zur Bildung von einer Spermatheke. Eine Regulation zum Ganzen, wie sie bei ½-Hälften eintritt, ist dagegen nicht mehr möglich.

Die paramediane Schnittführung, die ein ¾-Stück und ein ¼-Stück liefert (Abb. 1: V), ergänzt die Ergebnisse der Dreiergruppen. Wiederum zeigt sich, dass die Potenz zur Spermathekenbildung auf den Mittelteil der Genitalscheibe beschränkt ist (Tab. 1: V¾). Das ¼-Stück, das den Aussenstücken der Dreiergruppen entspricht, bildet in der Regel keine Spermatheken (Tab. 1: V¼). Die beiden Ausnahmefälle, die wohl wiederum auf ungenauer Orientierung des Schnittes beruhen, zeigen aber, dass die Durchtrennung hart am Aussenrand des Spermathekenfeldes erfolgte.

Die in Abb. 1, VI dargestellte Schnittführung lässt ein 7/8-Stück und ein 1/8-Stück entstehen. Erwartungsgemäss entstehen Spermatheken nur im grossen Stück (Tab. 1: VI 7/8). Die kleinen Randstücke liegen beträchtlich ausserhalb des Feldes; sie sind in keinem Falle zur Differenzierung von Spermatheken befähigt (Tab. 1: VI 1/8).

### b) *Einfluss des Wirtsalters*

Die in der Tabelle 1 zusammengestellten Ergebnisse beziehen sich auf die Gesamtheit aller Transplantationen. Das Versuchsmaterial ist insofern einheitlich, als überall Imaginalscheiben von verpuppungsreifen Larven des 3. Stadiums als Spender verwendet wurden. Die Wirte dagegen hatten in den verschiedenen Versuchsserien z. T. ein verschiedenes Entwicklungsalter. Für die Experimente K und II-VI benutzten wir Larven des mittleren 3. Stadiums. Diese Tiere benötigen nach der Implantation noch 10—14 Stunden bis zur Pupariumbildung. In der grossen Sammelserie I dagegen sind drei verschiedene „Unterserien“ vereinigt, die sich im Entwicklungsstadium der Wirtstiere unterscheiden. HADORN, BERTANI und GALLERA (1949) haben gezeigt, dass die Regulationsleistungen der männlichen Primordien grösser sind für Implantate, die in jüngere Wirtslarven implantiert werden, als für Implantate, die sich in alten Wirten entwickeln müssen.

TABELLE 2.

*Zahl* (n) *und Frequenz* (%) *der Fälle mit 0, 1, 2, 3 oder 4 Spermatheken für Implantatspaare* (2 × ½), *die in verschieden alte Wirte (I* a—*I* c*) implantiert wurden.*

| Experiment | Wirt | Bis Metamorphose | Spermatheken pro Stück | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0 | | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | N | M |
| | | | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | | |
| I*a* = 2 × ½ | jung | 18-24 h | — | — | — | — | 1 | 5,5 | 9 | 50 | 8 | 44,5 | 18 | 3,39 |
| I*b* = 2 × ½ | mittel | 10-14 h | — | — | — | — | 3 | 23,1 | 5 | 38,4 | 5 | 38,4 | 13 | 3,15 |
| I*c* = 2 × ½ | alt | 2- 6 h | — | — | 2 | 10 | 5 | 25 | 8 | 40 | 5 | 25 | 20 | 2,80 |
| K = 1 × ¹/₁ | mittel | 10-14 h | 2 | 1,3 | 16 | 10,5 | 126 | 84 | 2 | 1,3 | 4 | 2,7 | 150 | 1,93 |

K = Kontrollen mit Implantation einer ganzen Scheibe (¹/₁).
N = Gesamtzahl pro Serie und M = Mittelwert der Spermathekenzahl pro Serie.

Um einen allfälligen Wirtseinfluss auch für weibliche Anlagesysteme nachzuweisen, implantierten wir die Medianhälften (½-Stücke) entweder in Larven des frühen, des mittleren oder des späten 3. Stadiums. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 2 zusammengestellt. Dabei wurden für jedes Implantatspaar, das durch

Zerschneiden einer Scheibe entstand, die Spermathekenzahlen der beiden ½-Stücke addiert, die sich nebeneinander in je einem Wirt entwickelten. Bei vollkommener Regulation (z. B. Abb. 2, links) finden sich total 4 Spermatheken. In älteren Wirten bleibt dagegen eine solche Regulation häufig aus (z. B. Abb. 2, rechts). Aus der Tabelle 2 geht hervor, dass die Fälle mit vollständiger Regulation mit zunehmendem Alter der Wirtslarve abnehmen. Damit sinkt auch der Mittelwert (M) der Versuchstiere. Der Unterschied zwischen I *a* und I *b* ist nur knapp gesichert; der *t*-Test ergibt ein P von 0,02—0,05. Dagegen ist die Differenz zwischen der Serie I *a* (junge Wirte) und der Serie 1 *c* (alte Wirte) gut gesichert (P < 0,01). Gegenüber den Kontrollen (K = 1 × $^1/_1$) zeigen alle Versuchsserien eine klare Mehrleistung.

c) *Diskussion der Feldorganisation und des Regulationsvermögens*

Aus den Ergebnissen, die in Tabelle 1 zusammengestellt sind, haben wir geschlossen, dass das Spermathekenfeld im vorderen Mitteldrittel der Imaginalscheibe lokalisiert ist. Zellpartien, die ausserhalb dieses Areals liegen, sind nach Abtrennung niemals fähig, Spermatheken zu differenzieren.

Wir betrachten zunächst den Entwicklungsverlauf in einer Kontrollscheibe (Abb. 3: K). Die Genitalscheibe als Ganzes wächst im 3. Larvenstadium stark. Damit wird sich auch das Areal des Spermathekenfeldes vergrössern (K 1 → K 2). Wir nehmen ein zunächst einheitliches Feld an. Erst wenn es eine genügende Grösse erreicht hat (nach K 2), ist die Voraussetzung für die Bildung der sekundären Spermathekenanlage (K 3) verwirklicht. Jetzt dürften sich im ursprünglich einheitlichen Feld zwei Zentren aussondern und damit wären zu Beginn der Metamorphose (M) die Anlagebereiche für die paarigen Spermatheken festgelegt.

Wird durch mediane Zweiteilung (Abb. 3: I) das larvale Spermathekenfeld zentral halbiert, so fällt die Entwicklungsleistung der Halbscheiben verschieden aus, je nachdem sie in jüngere oder ältere Wirtslarven implantiert werden. Im jungen Wirt, (Abb. 3: I *a*) steht dem Implantat relativ viel Zeit zur Verfügung, um vor dem Einsetzen der Metamorphose die normale Feldgrösse durch regeneratives Wachstum (punktierte Zone) herzustellen (I *a* 2). Dies ist die Vorbedingung für die Bildung von paarigen

Spermatheken (I *a* 3). Wird dagegen die Scheibenhälfte in einen alten Wirt implantiert (I *c*), der kurz nach der Operation zur Metamorphose schreitet, so bleibt nur wenig Zeit zur Zellvermehrung. Das Spermathekenfeld erreicht die Normalgrösse nicht (I *c* 2), und es kann nur eine Spermatheke entstehen.

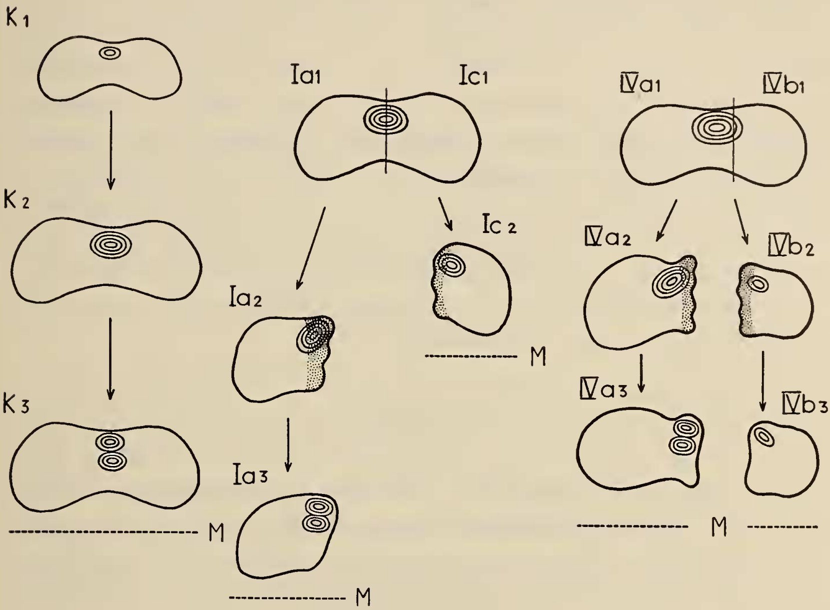



Abb. 3.

Schema zur Lage, Entwicklung, Ergänzung und Gliederung des Spermathekenfeldes bei verschiedenen Versuchsanordnungen und für unterschiedliche Zeitlagen des Metamorphosebeginns (M). Weitere Erklärungen im Text.

Beim Experiment IV *a* 1 wird in den 5/8-Stücken das Feld nur wenig beschnitten. Der geringe Defekt kann in den Implantaten völlig ausgeglichen werden (IV *a* 2), so dass regelmässig 2 Spermatheken zur Entwicklung kommen (IV *a* 3 und Tab. 1). Dem 3/8 Stück (IV *b* 1) wird nur ein kleiner Randabschnitt des Feldes zugeteilt. Obschon auch hier eine Regulation einsetzt und zu einem neuen Feldzentrum führt, bleibt die Feldgrösse unter dem normalen Ausmass (IV *b* 2). Das zur Verfügung stehende Zellmaterial reicht nicht aus für die Bildung einer zweiten sekundären Sper-

matheken-Anlage. Das Feld bleibt einzentrisch und liefert demnach nur eine Spermatheke (IV *b* 3).

Zusammenfassend scheinen uns folgende Aussagen über die Eigenschaften des Spermathekenfeldes berechtigt. Die Kompetenz zur Spermathekenbildung ist in der Genitalscheibe des 3. Larvenstadiums auf ein begrenztes Zellareal beschränkt. Beliebige Teilstücke dieses Feldes sind insofern vollkommen regulationsfähig, als es sich um die Differenzierung e i n e r Spermatheke handelt. Wir haben niemals die Bildung einer halben Kapsel beobachtet; meist sind die Spermatheken, die aus einem Feldteil hervorgehen, auch von normaler Grösse. Harmonisch verkleinerte oder abortive Kapseln treten nur ausnahmsweise auf. Für die Entstehung von zwei Spermatheken ist dagegen eine minimale Feldgrösse erforderlich. Kann diese bis zum Beginn der Metamorphose nicht mehr erreicht werden, so unterbleibt die Abtrennung des für die sekundäre Spermathekenknospe notwendigen Feldbereichs und es entwickelt sich nur eine Spermatheke.

## SUMMARY

1. The larval genital disc of *Drosophila melanogaster* females has been divided into different parts, which were then implanted into the body cavities of host larvae. Thereby the primordium which gives rise to the two spermathecae could be localized in the centre of the anterior half of the disc.

2. The spermathecae primordium of the late third larval instar exhibits all characteristics of an embryonic field capable of complete regulation.

3. It is shown, however, that a part of the field is only able to regulate and to differentiate two spermathecae if a certain minimal amount of field material is present or can be regenerated before the onset of metamorphosis.

## LITERATUR

Graber, H. 1949. *Genetische, entwicklungsphysiologische und morphogenetische Untersuchungen an der Mutante « spermatheca » (spt) von Drosophila melanogaster.* Z. Vererbungslehre 83: 106.

Hadorn, E. und H. Gloor. 1946. *Transplantationen zur Bestimmung des Anlagemusters in der weiblichen Genital-Imaginalscheibe von Drosophila.* Rev. suisse Zool. 53: 495.
Hadorn, E., G. Bertani und J. Gallera. 1949. *Regulationsfähigkeit und Feldorganisation der männlichen Genital-Imaginalscheibe von Drosophila melanogaster.* Roux' Archiv 144: 31.

---

## N° 15. **R. Weber,** Bern. — Zur Verteilung der Mitochondrien in frühen Entwicklungsstadien von *Tubifex* [1].

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Bern.)

### 1. Fragestellung

Während für differenzierte Zellen bereits ein reiches Tatsachenmaterial vorliegt, wonach besondere Strukturelemente des Cytoplasmas (Mitochondrien, Mikrosomen) entscheidend in den Zellstoffwechsel eingreifen, sind die Verhältnisse für embryonale Zellen noch wenig bekannt; die Vorstellungen über die Verknüpfung von Stoffwechselvorgängen mit den plasmatischen Strukturen der sich entwickelnden Eizelle sind noch vage und widersprechend (Boell 1955).

Zur Prüfung solcher Zusammenhänge dürften sich Mosaikkeime wohl gut eignen, da sie bereits sehr früh ein charakteristisches Anlagemuster zeigen, in welchem sich „organbildende Plasmen" vielfach durch unterschiedliche Stoffwechselzustände kennzeichnen lassen (Kühn 1955). Auch bei *Tubifex* ist dieser Entwicklungsgang zu beobachten: Die schon im Ei abgegrenzten Polplasmen werden während der Furchung hauptsächlich in die sog. „Somatoblasten" 2*d* und 4*d*, d. h. die Stammzellen des ectodermalen bzw. mesodermalen Keimstreifs verlagert (Penners 1922). Dieser Vorgang kann mit Hilfe der Nadireaktion sichtbar gemacht werden (Lehmann 1948), was auf die Bindung von Cyto-

---

[1] Vorläufige Mitteilung. Eine ausführliche Arbeit wird später anderswo erscheinen.